

- [22] Paumgartner, D. et al., 1981, *J. Microsc.*, 121(1):51-63.
- [23] Cruz-Orive, L. M., 1976, *J. Microsc.*, 107:1-18.
- [24] Hemon, D. et al., 1981, *J. Microsc.*, 121(1):29-37.
- [25] Markovics, J. et al., 1974, *Exp. Cell Res.*, 85:443-451.
- [26] Baudhuin, P. et al., 1979, *J. Microsc.*, 115(1):1-17.

免疫应答调节中独特型的专一性抑制及其抑制性细胞*

季永楠

(中国科学院上海细胞生物学研究所)

抗原与免疫系统接触,能选择性地与相应淋巴细胞结合,并引起淋巴细胞克隆增殖和分化,产生抗体(体液免疫)或形成致敏淋巴细胞(细胞免疫),从而表达免疫系统的效应功能。这就是克隆选择学说的主要含义,也就是所谓免疫应答。

抗原与淋巴细胞的识别结构—受体—结合,引起的淋巴细胞增殖和分化必定受某些机制的调节控制,这样才能保持生物体的免疫自稳状态,否则在抗原刺激后,生物体必将为增殖的淋巴细胞和它们的产物所淹没。免疫系统具有双重性,如T、B淋巴细胞的功能部分是协同的,部分是对抗的;淋巴细胞识别抗原的应答可以是正的,也可以是负的;抗体分子和淋巴细胞受体可以识别抗原,也可以被其它抗体分子和淋巴细胞受体所识别;抗体分子和受体的结构又为细胞的基因所编码。因此免疫系统的功能要受到基因、细胞、体液等不同水平以及各水平之间的相互作用的极其复杂的调节控制。

本文就免疫应答中,抗体和淋巴细胞抗原受体的独特型决定簇(idiotypic determinant)在调节中的作用及其与抑制性细胞的关系,简略综述于下。

独特型决定簇和网络学说

约20年前,Kunkel等、Oudin和Michel描述了抗体的独特型(Id)。Id是指抗体分

子所具有的特异的抗原决定簇,也就是生物个体中各别抗体分子所具有的独特决定簇。虽然某些克隆抗体具有相同的抗体活性,即它们都识别同一抗原,但在不同克隆的抗体之间,它们的Id决定簇不一定是相同的。一般来说,一个生物个体针对某一抗原的抗体,就其Id来说是不均一的。因此,即使在同一品系的不同个体间,甚至同一个体的抗体的Id不尽相同。但是,在某些特殊的抗原实验系统中,同一品系不同个体的抗体或部分抗体具有相同或相似的Id决定簇,这类决定簇称为交叉反应性Id(cross reactive idio type, CRI)决定簇。Id决定簇具有免疫原性,可以引起异种动物、同种动物或自身产生相应的抗体,称为抗独特型抗体(抗Id抗体)。十多年来,人们利用抗Id抗体,对抗体分子的Id决定簇的免疫化学、分子结构与Id专一性的关系、抗体的Id表达及其多样性、抗体可变区的遗传控制、淋巴细胞表面Id决定簇等方面做了不少工作。现在人

* 本文承叶敏同志审阅,谨致谢意。

名词缩写: Id = 独特型; CRI = 交叉反应性独特型; 抗Id抗体 = 抗独特型抗体; Id⁺-抗体 = 具有某一Id决定簇的抗体; Id⁻-抗体 = 不具有某一Id决定簇的抗体; Id⁺-细胞 = 受体具有某一Id决定簇的细胞; Id⁻-细胞 = 受体不具有某一Id决定簇的细胞; 抗Id⁻细胞 = 具有能与某一Id决定簇结合的受体的细胞; Ar = 偶氮苯磺酸盐,一种半抗原; Ar~细胞 = 偶联Ar的细胞; Id⁺~细胞 = 偶联Id⁺抗体的细胞。

们已经知道 Id 决定簇位于免疫球蛋白的 Fab 片断上,特别是在重链和轻链的高度可变区,所以 Id 决定簇与抗体分子的抗原结合位点、高度可变区有密切关系。同时通过抗 Id 抗体的生物效应的研究和免疫细胞化学的观察,阐明了针对同一抗原的 T、B 淋巴细胞的抗原受体,可以具有相同的 Id 决定簇。

1974年 Jerne^[1]提出了淋巴细胞抗原受体和体液抗体的 Id 与抗 Id 之间相互识别,相互作用的免疫应答调节的网络学说。这学说认为抗原刺激产生抗体,抗体的 Id 决定簇引起抗 Id 抗体的产生,而抗 Id 抗体又相继引起抗 Id 抗体的产生,因此在一个个体内,抗体分子或淋巴细胞抗原受体的 Id 能被其它抗体分子和淋巴细胞所识别。如此,免疫系统的各组成在抗 Id 的相互识别和相互作用的基础上连成网络。Jerne 认为网络调节的基本特点主要是抑制,因为只有抑制才能保持生物体的免疫自稳状态。网络的作用保证了抗体产生受到制约:在没有抗原刺激时,体内 Id 的浓度维持在低水平,淋巴细胞处于受抑制状态;在有抗原刺激时,激活淋巴细胞产生抗体,打破了原来的平衡状态。但是这个去平衡的过程引起了抗 Id 抗体产生的连锁应答,最后抑制了抗原刺激的克隆的增殖,再度恢复到动态平衡,达到免疫自稳状态。

抗 Id 抗体对免疫应答的抑制作用

一、体液免疫应答

Hart^[2]首次报道将针对 A/J 小鼠抗偶氮苯胍酸盐(Ar)抗体的 Id 决定簇的兔抗血清注射给 A/J 小鼠,使小鼠几乎不产生带相应 Id 决定簇的抗 Ar 抗体。此后为许多工作者在不同实验系统中所证实。A/J 小鼠抗 A 组链球菌多糖(A-CHO)抗体,其中大部分抗体分子具有称为 A5A 的 Id 决定簇(A5AId)。正常成年 A/J 小鼠注射抗 A5AId 抗体后,再用 A 组链球菌免疫,结果 A5AId⁻抗 A-CHO 抗体的产生受到抑制,而且发现抑制作用主要是抗

A5AId 抗体中的 IgG2 引起的^[3]。BALB/C 小鼠抗肺炎球菌 C 多糖上的决定簇——磷酸胆碱(PC)的抗体,其 Id 决定簇为 T15Id。Kim^[4]用抗 T15Id 抗体在体外能专一地抑制正常 BALB/C 小鼠脾细胞对 PC 的应答。新生小鼠注射抗 T15Id 抗体,也能抑制其成年后对相应抗原的应答,或抑制其产生具有相应 Id 决定簇的抗体^[5]。

二、细胞免疫应答

因为已有很多证据表明 T 淋巴细胞的抗原受体具有 Id 决定簇,所以抗 Id 抗体不仅影响体液免疫应答,而且影响细胞免疫应答——T 淋巴细胞的功能。T 淋巴细胞的功能,如移植物的排斥,淋巴细胞细胞毒性,移植物抗宿主反应,混合淋巴细胞反应等都可以被抗 Id 抗体所抑制。

Geczy 等^[6]首次报告抗 Id 抗体抑制抗原专一的 T 淋巴细胞的增殖应答。Binz 等^[7]用 Lewis 大鼠抗 DA 大鼠的同种异体抗体反复免疫(Lewis × DA)F₁。在 F₁ 产生了针对 Lewis 抗 DA 抗体的 Id 决定簇的抗体后,以 Lewis 大鼠的淋巴细胞注入 F₁ 的一只后足掌,另一足后掌注入 DA 大鼠的淋巴细胞,7 天后取膈窝淋巴结称重,则注射 Lewis 大鼠淋巴细胞一侧的膈淋巴结重量显然不及注入 DA 大鼠淋巴细胞一侧的膈淋巴结,说明 Lewis 大鼠淋巴结细胞抗宿主反应受到了抑制。Binz 和 Askonas^[8]以(CBA × C57BL)F₁ 产生的抗(CBA 抗 C57BL 受体)抗体加补体处理的 CBA 小鼠脾细胞作为反应细胞,以照射过的 C57BL 小鼠脾细胞作为刺激细胞,作混合淋巴细胞反应,结果发现处理过的 CBA 小鼠脾细胞的反应能力下降,此抑制作用具有特异性。Kimura^[9]以 BALB/C 小鼠同种异体抗原致敏 C3H 小鼠,用抗 Id 抗体加补体处理致敏的 C3H 小鼠脾细胞,这种脾细胞对 BALB/C 小鼠细胞的细胞毒性下降。Stuart 等^[10]阐明受者经免疫产生抗 Id 抗体,这抗体是针对同种异体抗体的 Id,这时移植相应的同种异体的肾脏,移植物在受者

中的存活期就明显延长,说明受者的移植物排斥反应受到抑制。Binz 和 Wigzell^[11]也观察到移植的皮片在产生了抗受体抗体的受者中,存活期从9—12天延长到14—39天。

总之,大量实验证据表明存在着一种 Id 专一性抑制作用,调节着机体的免疫应答。

Id 专一抑制作用的细胞学过程

免疫应答调节中存在着一种 Id 专一的抑制作用,这已为许多实验所证实,那么这种抑制作用是怎样实现的?它的细胞学过程如何?现以 A/J 小鼠对 Ar 的免疫应答为例阐明之。

A/J 小鼠对 Ar 可以产生两类免疫应答——体液和细胞免疫:如将 Ar 偶联载体血蓝蛋白(Ar-KLH)进行免疫,产生的抗 Ar 抗体中,约有二分之一抗体分子具有 CRI,即 CRI⁺-抗 Ar 抗体。如将偶联 Ar 的细胞(Ar~细胞)皮下免疫小鼠,5天后,用 Ar 进行足掌攻击,一天后就会引起足掌肿胀,这就是所谓延缓型超敏性(DTH)应答。对这两类应答均可诱发 Id 专一的抑制。

一、在 A/J 小鼠抗 Ar 免疫应答中诱发 Id 专一抑制作用的三种方式

1. 抗 Id 抗体引起的 Id 专一的抑制 Hart^[12]和 Pawlak 等^[12]注射兔抗 CRI 抗体给 A/J 小鼠,无论成年还是新生小鼠,只要在以 Ar-KLH 免疫前进行注射,都能抑制小鼠产生 CRI⁺-抗 Ar 抗体,但是不影响全部抗 Ar 抗体的产生。这种 Id 专一的抑制至少可以维持6周以上。Sy 等^[13]也发现抗 CRI 抗体能抑制 A/J 小鼠的 DTH 应答,并且这种抑制作用具有抗原专一性和 Id 专一性。

2. 偶联 CRI⁺-抗 Ar 抗体的白细胞(CRI⁺~细胞)引起的 Id 专一的抑制作用 Dohi 和 Nisonoff^[14]将 CRI⁺~胸腺细胞在免疫前注射给同系小鼠,可以选择性地抑制 CRI⁺-抗体的产生,而且发现作为载体的胸腺细胞不受 H-2 的约束,也就是以 C57BL/10、

BALB/C 小鼠的胸腺细胞代替 A/J 小鼠的胸腺细胞同样有效。Sy 等^[15]在 DTH 应答中也证明免疫前注射 CRI⁺~脾细胞能够抑制小鼠的 DTH 应答,而且这种抑制作用对 CRI 是专一的,因为将 CRI⁺~脾细胞注射给 CRI⁻品系的 BALB/C 小鼠(其抗 Ar 抗体是 CRI⁻的),则不能抑制其 DTH 应答;同样 CRI⁻~脾细胞也不能在 A/J 小鼠中引起 DTH 应答的抑制。

3. 偶联 Ar 的脾细胞(Ar~脾细胞)引起 DTH 的无应答性 Ar~脾细胞皮下免疫 A/J 小鼠后,其足掌用 Ar~细胞或 Ar 攻击,能引起足掌肿胀的 DTH 应答。相反,如果静脉注射 Ar~脾细胞,小鼠就不产生 DTH 应答^[16]。

二、A/J 小鼠抗 Ar 免疫应答中 Id 专一的抑制性细胞

为了证明 Id 专一的抑制作用的发生是否通过抑制性细胞实现的,一般采用继承传递实验来验证。下列实验是将 Id 专一抑制的小鼠(供者)的脾细胞继承传递给同系的正常小鼠(受者),然后用 Ar-KLH 或 Ar~细胞免疫受者,检测其免疫应答的受抑情况,以判断抑制性细胞的存在与否。

1. 抗 CRI 抗体诱发的抑制性 T 细胞 Owen 等^[17]证明注射抗 CRI 抗体引起 A/J 小鼠不产生 CRI⁺-抗 Ar 抗体时,体内出现 Id 专一的抑制性 T 细胞(Ts 细胞)。用偶联 CRI⁺-抗 Ar 抗体的 Fab 片断的同系红血球(CRI⁺~RBC)作花结试验,结果表明这种 Ts 细胞能与 CRI⁺-RBC 形成花结,也就是说 Ts 细胞具有针对 CRI 的受体,能与 CRI 决定簇结合。这种细胞以“抗 Id-Ts 细胞”表示。但是抗 Id-Ts 细胞不能抑制已经 Ar-KLH 初次免疫的小鼠产生 CRI⁺-抗 Ar 抗体^[18]。抗 CRI 抗体的注射也抑制细胞免疫应答,Sy 等^[13]发现 A 系或 C₅₇BL/20 小鼠注射抗 CRI 抗体引起对 Ar 半抗原的 DTH 应答的抑制,同时在体内出现抑制性细胞。如果继承传递的细胞先用抗 Thy-1,2 抗血清加补体处理,那么受者的 DTH 应答就不受抑制,这表明抑制性细胞属于 T 细胞

(Ts细胞)。为了进一步阐明抗CRI抗体引起的抑制作用是通过Ts细胞而发生的,作者预先用环磷酰胺处理小鼠(50毫克/公斤体重),抑制其淋巴细胞活力,两天后再注射抗CRI抗体,结果小鼠的DTH应答没有受到抑制,这进一步说明DTH应答的抑制是通过Ts细胞的发生而引起的。

2. CRI⁺-抗Ar抗体诱发Ts细胞 抗Id抗体诱发的抗Id-Ts细胞具有针对Id的受体,那么利用CRI⁺-抗Ar抗体能否诱发相同的Ts细胞?回答是可以的。通过继承传递实验证明CRI⁺-抗Ar抗体~细胞可以抑制CRI⁺-抗体的应答也是由于诱发了抑制性T细胞的结果^[14]。同样,在DTH应答中,CRI⁺-抗Ar抗体~细胞可以诱发抗CRI-Ts细胞,抑制DTH应答。Sy等^[19]还发现,CRI⁻品系BALB/C和B10.D2小鼠经CRI⁺-抗Ar抗体~细胞处理后,均能产生Ts细胞。它们的作用可以继承传递给CRI⁺品系A/J和C.AL-20小鼠,使其DTH应答受到抑制;但是CRI⁻品系的BALB/C和B10.D2小鼠本身对Ar的DTH应答不受抑制。用涂布了CRI⁺-抗Ar抗体的塑料板,可以富集上述BALB/C小鼠的Ts细胞,说明该细胞是抗CRI-Ts细胞。同时也说明CRI⁻品系BALB/C小鼠的DTH应答不受抑制是因为缺乏Ar专一的CRI⁺-细胞。

3. Ar~脾细胞诱发的Ts细胞 静脉注射Ar~脾细胞可抑制小鼠对Ar的DTH应答,实验证明这是由于诱发了另一种Ts细胞——CRI⁺-Ts细胞^[20]。因为这种细胞经抗CRI抗体加补体处理后,在继承传递中就失去其引起DTH的无应答性的能力。这种Ts细胞具有抗原专一性,如果供者在静脉注射Ar~脾细胞的同时,用另一半抗原三硝基苯(TNP)诱发其对TNP的DTH的无反应性,那么它的细胞虽经抗CRI抗体加补体处理,但仍能传递对TNP的DTH的无应答性。同样,CRI⁺-Ts细胞能被涂布Ar的塑料板所粘着,这也表明了它们的抗原专一性。用Ar~细胞在CRI⁻品系

BALB/C小鼠中也可以诱发Ts细胞,但它们是CRI⁻-Ts细胞,因为抗CRI抗体加补体的处理不影响它们的继承传递的抑制作用,这一点与该品系小鼠产生CRI⁻-抗Ar抗体相符合。

综上所述,在A/J小鼠抗Ar实验系统中,用不同方式可以诱发两类不同的Id专一的Ts细胞:一是静脉注射Ar~细胞诱发的CRI⁺-Ts细胞,称为Ts₁细胞;二是抗CRI抗体或CRI⁺-抗Ar抗体~细胞诱发的抗CRI-Ts细胞,称为Ts₂细胞。

三、Ts细胞与抑制因子

Bach等^[21]以Ar~脾细胞致敏A/J小鼠,7天后,冻融其脾细胞或胸腺细胞,从上清液中得到的一种可溶性因子,将其注射给正常同系小鼠,可抑制小鼠的DTH应答。实验表明这种因子是来自T淋巴细胞,因为它们对抗Thy1,2抗体加补体是敏感的。通过免疫亲和层析的分析,这因子具有CRI决定簇。已经知道静脉注射Ar~脾细胞可诱发CRI⁺-Ts细胞,即Ts₁细胞,所以这种可溶性抑制因子十分可能来自Ts₁细胞,故称其为TsF₁。作者对TsF₁的性质作了进一步的分析,分子量为30000—60000,能与Ar和抗CRI抗体反应,并具有H-2的I-J亚区决定的决定簇,但不能与抗Ig抗体反应,所以不是一种Ig,可是还没有直接的证据表明TsF₁就是Ts₁细胞本身的受体。同时已有实验证明TsF₁引起的DTH应答的抑制是诱发了Ts₂细胞的结果。有实验表明Ts₂细胞也能释放一种抑制因子——TsF₂,它不能与Ar和Ig结合,但能与CRI⁺-抗Ar抗体结合。

Hirai和Nisonoff^[22]将以抗CRI抗体引起专一抑制的小鼠脾脏T细胞或脾细胞的培养物的上清液与正常同系小鼠脾细胞温育4小时后,继承传递给560rad.照射过的同系小鼠,然后受者小鼠用Ar-KLH免疫,结果该小鼠能产生高效价的抗Ar抗体,但是没有CRI⁺-抗Ar抗体出现,这说明上述培养物的上清液

中存在着CRI专一的抑制因子。通过抗Fab抗体、CRI⁺-抗Ar抗体或抗CRI抗体组成免疫吸附柱分析,表明上清液中有两类不同的抑制因子:一种具有Id决定簇,即TsF₁;另一种具有抗Id-受体,能与CRI⁺-抗Ar抗体结合,即TsF₂。通过抗Thy1,2抗体依赖补体的细胞毒性试验,证明这两类因子都是T细胞产生的。

无论体液免疫应答还是细胞免疫应答(DTH),都存在着两种不同的抑制因子——TsF₁和TsF₂。通过对它们作用的动力学研究,发现这两种因子的作用机制不相同。用Ar~细胞皮下免疫后,紧接着就给予TsF₁,则小鼠的DTH应答受到抑制;如果在免疫后3—4天给予TsF₁,则小鼠的DTH应答不受抑制。相反,TsF₂无论在免疫后3—4天给予,还是免疫后立即给予,都能抑制小鼠的DTH应答。这些资料提示TsF₁作用于DTH应答的诱发起期,而TsF₂作用于DTH应答的效应期。

综上所述,生物体的免疫应答中确实存在着一种Id专一的抑制作用,调节着机体的免疫应答。在上述Id专一抑制的实验中有一共同的特征,即无论哪一种方式诱发的抑制作用都必需在抗原刺激前进行才能生效,抗原致敏后就很难引起抑制作用。然而在生理条件下的生物体固有的免疫应答中,抗原刺激前不可能有上述各种不同方式的处理。那么在“自然”条件下,也就是在抗原刺激引起的免疫应答中,有没有Id专一的抑制作用?已有实验表明,抗原多次免疫后,会产生抗Id抗体,这时相应Id⁺-抗体就消失^[23]。

我们知道抗原对免疫应答起着十分重要的调节作用。除了少数细菌多糖类等不依赖T淋巴细胞的抗原外,大多数抗原通过抗原专一的辅助T细胞引起刺激作用,通过抗原专一的抑制性T细胞引起抑制作用,以及抗原本身在生物体内的异化作用、抗体中和或封闭抗原等,使抗原浓度下降,这些都调节着免疫应答。在这方面,Id网络调节的作用如何?这是一个有待

研究的问题。有人认为抗原的调节作用是突出的^[24],因为就获得性免疫来说,在抗原选择性地刺激相应的淋巴细胞后,抗原的识别和消失似乎控制了免疫应答,免疫系统对抗原的存在和抗原的浓度是敏感的。Id网络提供了一种辅助的刺激和抑制作用,尤其在抗原刺激以后。无论如何,重要的是淋巴细胞的抗原受体和体液抗体以及各种免疫活性因子的Id和抗Id的存在,以及它们之间相互识别、相互作用,使免疫系统的各组成形成一个完整的相互制约的复杂的网络——免疫系统自身内在的网络,并在某些抗原系统证明了它的作用是一种客观存在的调节系统。但是,至今人们对它尚缺乏系统深入的了解,所以深入研究它的作用机制和阐明它的普遍性意义,对免疫应答调节的全面了解和把握免疫应答是有益的,也是必需的。

参 考 文 献

- [1] Jerne, N. K., 1974, *Ann. Immunol. (Inst. Pasteur)*, 125C:373-389.
- [2] Hart, D. A. et al., 1972, *J. Exp. Med.*, 135:1293-1300.
- [3] Eichmann, K., 1977, in "Immunopathology" Edited by Miescher, P. A., pp. 114-118.
- [4] Kim, B.S., 1979, *J. Exp. Med.*, 149:1371-1378.
- [5] Augustin, A. and Coseza, H., 1976, *Eur. J. Immunol.*, 6:497-501.
- [6] Geczy, A. F. et al., 1976, *J. Exp. Med.*, 144:226-240.
- [7] Binz, H. et al., 1973, *Nature*, 246:146-148.
- [8] Binz, H. and Askonas, B. A., 1975, *Eur. J. Immunol.* 5:618-623.
- [9] Kimura, A. K., 1974, *J. Exp. Med.*, 139:888-901.
- [10] Stuart, F. P. et al. 1976, *Transplantation*, 22:455-466.
- [11] Binz, H. and Wigzell, H., 1977, *Prog. Allergy*, 23:154-198.
- [12] Pawlak, L. L. et al., 1973, *J. Exp. Med.*, 137:1442-1458.
- [13] Sy, M. -S. et al., 1979, *J. Exp. Med.*, 150:1216-1228.
- [14] Dohi, Y. and Nisonoff, A., 1979, *J. Exp.*